

АТФ-ЧУВСТВИТЕЛЬНЫЕ КАЛИЕВЫЕ КАНАЛЫ И АУТОРЕГУЛЯЦИЯ КОРОНАРНОГО КРОВОТОКА КРЫС

Лазуко С.С., Солодков А.П.

*УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов
медицинский университет»*

Связанные с мембраной кардиомиоцитов АТФ-чувствительные калиевые каналы (КАТФ-каналы) впервые описал Noma в 1986 году [3]. После этого они были обнаружены в многочисленных клетках, включая гладкомышечные, бета-клетки поджелудочной железы и эндотелиоциты. Данные каналы находятся под контролем метаболического состояния клетки и избирательно ингибируются производными сульфонилмочевины, такими как, глибенкламид, который широко используется в лечении сахарного диабета второго типа. Эксперименты, выполненные на коронарных сосудах различных видов животных с использованием их блокатора глибенкламида, показали, что КАТФ-каналы принимают участие в регуляции базального сосудистого тонуса, возникновении реактивной гиперемии, гипоксической вазодилатации и расширении сосудов, вызываемой аденозином. Клинические исследования, проведенные в последнее время, продемонстрировали, роль КАТФ-каналов в регуляции тонуса периферических сосудов человека.

В связи с этим целью исследования было выяснить характер влияния блокады КАТФ-каналов глибенкламидом на ауторегуляцию коронарного потока, выраженность реактивной гиперемии,

величину коронарного расширительного резерва и сократительную функцию миокарда в изолированных сердцах крыс.

Методы. Коронарный поток и сократительную функцию миокарда изучали на препаратах изолированных по Лангендорфу сердцах крыс, перфузируемых в условиях постоянного давления и сокращающихся в спонтанном ритме. Сердце перфузировалось раствором Кребса – Хензеляйта, насыщенным карбогеном (95% O₂ и 5% CO₂) при температуре 37⁰С. Для сопоставления величины коронарного потока и характера сократительной активности изолированного сердца рассчитывали показатель интенсивности перфузии миокарда, как отношение объемной скорости коронарного потока (ОСКП) к произведению частоты сердечных сокращений в минуту на величину развиваемого внутрижелудочкового давления.

Каждый опыт состоял из двух этапов. На первом этапе сердце перфузировали раствором Кребса – Хензеляйта, на втором – этим же раствором, но с добавлением глибенкламида. В ходе опыта перфузионное давление ступенчато повышали от 40 до 120 мм рт. ст. с шагом в 20 мм рт. ст. Коронарный расширительный резерв определяли как отношение между величиной коронарного потока, найденного после 60-ти секундного прекращения перфузии (максимальный гиперемический коронарный поток, МГКП) и исходным потоком. Степень изменения коронарного потока по мере увеличения перфузионного давления, оценивали по индексу ауторегуляции, предложенному Е.Б.Новиковой (1972) [1].

Глибенкламид (блокатор К_{АТФ}- каналов, Sigma, USA) растворяли в DMSO и вводили в перфузионный раствор в объеме 0,1мл, так чтобы его конечная концентрация была равна 1 мкМ. Верапамил добавляли в раствор Кребса в концентрации 10⁻⁶М. Раствор сапонины (Merk) вводили инъектором интракоронарно, приспособивая его расход так, чтобы он поступал к сердцу в дозе 44 мкг/мл коронарного потока в течение 2 мин.

Цифровой материал обрабатывали общепринятыми методами вариационной статистики с использованием критерия Стьюдента с помощью программы “Statistica 6.0”.

Результаты. В изолированных сердцах крыс, перфузируемых раствором Кребса-Хензеляйта, содержащим глибенкламид, наблюдалось снижение ОСКП в среднем на 30%. При этом увеличивался индекс ауторегуляции при подъеме перфузионного давления от 60 до 80 и от 80 до 100 мм рт.ст. на 42 и 40% соответственно, а выраженная область ауторегуляции начиналась с перфузион-

ного давления 60 мм рт.ст., а не 80 мм рт.ст., как в контроле. После блокады глибенкламидом K_{ATP} -каналов МГКП, определяемый при перфузионном давлении 80 и 120 мм рт.ст., снизился в среднем на 33%. Однако в связи с тем, что одновременно уменьшалась базальная ОСКП при этих же уровнях перфузионного давления, коронарный расширительный резерв достоверно не изменялся.

Глибенкламид оказал выраженное влияние на сократительную функцию миокарда. При всех уровнях перфузионного давления развиваемое внутрижелудочковое давление снижалось в среднем на 29%. Однако количество перфузионной жидкости, приходящейся на единицу развиваемого давления (интенсивность перфузии) было таким же, как и в контроле, свидетельствуя о том, что глибенкламид не нарушал тонкой взаимосвязи существующей между величиной кровоснабжения миокарда и его сократительной функцией.

В связи с тем, что глибенкламид вызывает деполяризацию гладкомышечных клеток на следующем этапе, изучили его влияние на ауторегуляцию коронарного кровотока и сократительную функцию миокарда на фоне блокады кальциевых каналов верапамилом. Верапамил, введенный в перфузионный раствор увеличивал ОСКП в среднем на 30% при перфузионном давлении от 100 до 120 мм рт.ст., снижал индекс ауторегуляции и коронарный расширительный резерв на 41 и 22% соответственно. МГКП при этом не изменялся. Данное увеличение ОСКП происходило на фоне уменьшения развиваемого внутрижелудочкового давления в среднем на 55%, что сопровождалось возрастанием интенсивности перфузии миокарда в 1,5 раза. Добавление глибенкламида в перфузионный раствор, содержащий верапамил, не сопровождалось, как в контроле, снижением ОСКП и развиваемого внутрижелудочкового давления. При этом интенсивность перфузии миокарда оставалась увеличенной в 1,2 раза, как и в сердцах перфузируемых с добавлением верапамила без глибенкламида. Однако индекс ауторегуляции под влиянием глибенкламида уменьшался при подъеме перфузионного давления с 40 до 60 мм рт.ст. от 60 до 80 мм рт.ст. на 52 и 43% соответственно, что было следствием снижения растяжимости коронарных сосудов, в отличие от изолированных сердец, перфузируемых без верапамила (контроль) на его фоне глибенкламид не уменьшал МГКП. Таким образом, можно заключить, что влияние глибенкламида на тонус коронарных сосудов и сократительную функцию миокарда реализуется при обязательном увеличении, входящих внутрь клетки внеклеточных ионов каль-

ция. Учитывая тот факт, что $K_{ATФ}$ каналы находятся в мембране не только гладкомышечных клеток и кардиомиоцитов, но и эндотелиоцитов, на следующем этапе изучали влияние глибенкламида на ауторегуляцию коронарного потока и сократительную функцию миокарда изолированных сердец, в которых эндотелий коронарных сосудов повреждали сапонином. После воздействия сапонины ОСКП уменьшилась при перфузионном давлении от 40 до 80 мм рт.ст. в среднем на 26%, индекс ауторегуляции, МГКП и коронарный расширительный резерв на 49, 22 и 17% соответственно. Добавление глибенкламида в раствор, которым перфузировали сердца группы «сапонин» сопровождалось снижением ОСКП. Так, при перфузионном давлении 40 и 60 мм рт.ст., эффект глибенкламида был выражен в значительно меньшей степени (ОСКП снижалась на 12%), чем в контроле (ОСКП снижалась на 26%), а в пределах перфузионного давления от 60 до 120 мм рт.ст. снижение ОСКП было выражено в той же степени, как и в контроле, т.е. на 27% - 30%. При этом индекс ауторегуляции увеличивался при подъеме перфузионного давления от 60 до 80 мм рт.ст. на 125%. МГКП уменьшался в среднем на 32%, а коронарный расширительный резерв не отличался от группы «сапонин». Следовательно, в условиях повреждения эндотелия, эффективность глибенкламида в отношении его влияния на тонус сосудов сердца зависела от величины перфузионного давления – снижалась при низких значениях перфузионного давления и не отличалась от контрольных сердец с интактным эндотелием в области ауторегуляции коронарного потока. Сапонин не оказал существенного влияния на сократительную функцию миокарда. Однако в случае сочетания сапонины и глибенкламида развиваемое внутрижелудочковое давление уменьшалось в той же степени, как и под влиянием только глибенкламида, действующего на фоне не поврежденного эндотелия, то есть на 29%. Более того, под влиянием сапонины и его сочетанием с глибенкламидом, интенсивность перфузии не отличалась от контроля, что свидетельствует о сохранении взаимосвязи между величиной коронарного кровотока и развиваемым внутрижелудочковым давлением как в условиях отсутствия метаболитов эндотелия, так и дополнительной блокады $K_{ATФ}$ каналов гладкомышечных клеток.

Обсуждение. Подобные эффекты действия глибенкламида, во-первых, связаны с тем, что в гладкомышечных клетках коронарных сосудов наблюдается некоторая базальная активность $K_{ATФ}$ -каналов, которая сопровождается снижением их способно-

сти к ауторегуляции; **во-вторых**, блокада K_{ATP} -каналов усиливает способность коронарных сосудов отвечать сужением в ответ на их растяжение (феномен Остроумова-Бейлиса) и повышает эффективность ауторегуляторного процесса; **в-третьих**, под влиянием глибенкламида уменьшается величина максимального гиперемического коронарного потока и продолжительность реактивной гиперемии, что свидетельствует о важной роли K_{ATP} -каналов не только в регуляции сосудистого тонуса при увеличении перфузионного давления, но и при его снижении. Подобные эффекты также описаны ранее [2], возможно, связаны с нарушением функциональной активности K_{ATP} -каналов как эндотелиальных, так и гладкомышечных клеток сосудов сердца; **в-четвертых**, выраженный и повторяющийся эффект глибенкламида на тонус коронарных сосудов, по-видимому, был связан с деполяризацией мембран гладкомышечных клеток, так как блокада потенциалзависимых кальциевых каналов полностью устраняла его вазоконстрикторное действие; **в-пятых**, при повреждении эндотелия сапонином менее выраженное, чем в контрольных сердцах с интактным эндотелием вазоконстрикторное действие глибенкламида наблюдалось только при низких уровнях перфузионного давления – 40 и 60 мм рт.ст. Это может свидетельствовать о важном значении эндотелия в поддержании активности K_{ATP} -каналов гладкомышечных клеток сосудов сердца только при плохо выраженной ауторегуляции потока. В то время как в области, хорошо выраженной ауторегуляции, активность K_{ATP} -каналов не зависит от наличия эндотелия. Можно предположить, что в контрольных сердцах основную нагрузку в регуляции тонуса коронарных сосудов при ауторегуляции несут K_{ATP} -каналы расположенные в мембране гладкомышечных клеток, а не эндотелиоциты; **в-шестых**, вызываемое глибенкламидом уменьшение сократительной функции миокарда могло быть связано как со снижением перфузии миокарда, вызванным уменьшением ОСКП, так и с блокадой K_{ATP} -каналов непосредственно кардиомиоцитов.

Таким образом, постоянно активные в физиологических условиях K_{ATP} -каналы мембран гладкомышечных клеток представляют собой одну из систем, которая наряду с эндотелиальным NO, простациклином и эндотелиальным фактором гиперполяризации необходима как модулятор миогенных реакций, лежащих в основе полноценного ауторегуляторного процесса в сосудах сердца крысы.

Литература:

1. Новикова Е.Б. Об ауторегуляции в коронарной системе // Физиол. журн. СССР. – 1972. – Т 58, №1. – С.61-74.
2. Favougue O.H.M., Meredith J.T. Inhibition of vascular ATP-sensitive K^+ channels does not affect reactive hyperemia in human forearm // Am.J Physiol (Heart and Circul Physiol). – 2003 – Vol.284. – P.711-718
3. Noma A. ATP-regulated K^+ channels in cardiac muscle // Nature. – 1983. – Vol.305 – P.147-148